

miR-146、miR-26 水平与支气管哮喘患者 气道炎症及气道重塑的关系

董 扬¹, 傅应亚², 方 伟¹

(1.重庆市南岸区人民医院呼吸内科, 重庆 400000;

2.重庆市第七人民医院呼吸内科, 重庆 400000)

摘要:目的 探讨 miR-146、miR-26 在支气管哮喘患者气道炎症及气道重塑中的作用及机制。方法 收集 2021 年 3 月-2023 年 1 月在重庆市南岸区人民医院就诊的 75 例支气管哮喘患者(哮喘组)和 25 名健康体检者(对照组), 检测血液和呼吸中的相关分子, 用 HRCT 扫描测量气道的形状和大小。分析 miR-146、miR-26 水平与哮喘严重程度、气道炎症及气道重塑的相关性。结果 哮喘组 miR-146、miR-26 水平低于对照组, 且随着哮喘严重程度的增加而降低($P<0.05$)。哮喘组 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数均高于对照组, 且随着哮喘严重程度的增加而升高($P<0.05$)。miR-146、miR-26 水平与 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数呈负相关($P<0.05$)。结论 miR-146、miR-26 水平与支气管哮喘患者气道炎症及气道重塑有密切关系, 可能通过调节 T2 型免疫反应和一氧化氮合成酶表达参与哮喘的发生和发展。测定外周血中 miR-146、miR-26 水平可能有助于评估哮喘患者的病情和治疗效果。

关键词: 支气管哮喘; 微小 RNA; 呼出气一氧化氮; 嗜酸性粒细胞; 气道重塑

中图分类号: R526.2+5

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.09.025

文章编号: 1006-1959(2024)09-0130-04

Relationship Between miR-146, miR-26 Levels and Airway Inflammation, Airway Remodeling in Patients with Bronchial Asthma

DONG Yang¹, FU Ying-ya², FANG Wei¹

(1.Department of Respiratory Medicine, Chongqing Nan'an District People's Hospital, Chongqing 400000, China;

2.Department of Respiratory Medicine, Chongqing Seventh People's Hospital, Chongqing 400000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role and mechanism of miR-146, miR-26 in airway inflammation and airway remodeling in patients with bronchial asthma. **Methods** A total of 75 patients with bronchial asthma (asthma group) and 25 healthy subjects (control group) were collected from March 2021 to January 2023 in Chongqing Nan'an District People's Hospital. The related molecules in blood and respiration were detected, and the shape and size of the airway were measured by HRCT scan. The correlation between miR-146, miR-26 levels and asthma severity, airway inflammation and airway remodeling was analyzed. **Results** The levels of miR-146 and miR-26 in the asthma group were lower than those in the control group, and decreased with the increase of asthma severity ($P<0.05$). The levels of FeNO, EOS%, IgE and HRCT parameters in the asthma group were higher than those in the control group, and increased with the increase of asthma severity ($P<0.05$). The levels of miR-146 and miR-26 were negatively correlated with FeNO level, EOS%, IgE level and HRCT parameters ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of miR-146, miR-26 are closely related to airway inflammation and airway remodeling in patients with bronchial asthma, which may be involved in the occurrence and development of asthma by regulating T2 immune response and nitric oxide synthase expression. The determination of miR-146 and miR-26 levels in peripheral blood may be helpful to evaluate the condition and therapeutic effect of asthma patients.

Key words: Bronchial asthma; MicroRNA; Exhaled nitric oxide; Eosinophils; Airway remodeling

支气管哮喘(bronchial asthma, BA)是一种常见的慢性气道炎症性疾病,以气道高反应性和可逆性气流受限为特征^[1]。哮喘的发病机制尚不完全清楚,但认为与遗传、环境、免疫等多种因素有关。目前,

哮喘的治疗主要是控制气道炎症和缓解支气管痉挛,但仍有部分患者难以达到理想的控制水平。因此,寻找新的哮喘发病机制和治疗靶点是当前哮喘研究的重要方向。微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类长度为 18~25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,通过与靶基因的 3' 非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)结合,导致靶基因的降解或转录后抑制^[2-4]。miRNA 参与了多种生物学过程,包括细胞分化、增殖、凋亡、代谢、免疫调节等。近年来,越来越多的证据表明,miRNA 在哮喘的发生和发展中发挥重

作者简介:董扬(1987.4-),女,重庆人,硕士,主治医师,主要从事慢性阻塞性肺部疾病、支气管哮喘研究

通讯作者:方伟(1981.3-),男,重庆人,本科,主治医师,主要从事慢性阻塞性肺病、支气管哮喘、肺癌研究

要作用^[5]。miR-146 和 miR-26 是两种在哮喘中表达异常的 miRNA。miR-146 在呼吸道上皮细胞、肺泡巨噬细胞、嗜酸性粒细胞等细胞中表达,可以调节 T2 型免疫反应表达^[6,7]和气道平滑肌中炎症介质的表达。miR-26 在肺泡上皮细胞、平滑肌细胞等细胞中表达,可以抑制炎症因子和平滑肌收缩。这些细胞和分子都与哮喘患者的气道炎症和气道重塑有关。气道重塑(airway remodeling)是指哮喘患者长期存在的气道结构改变,包括气道壁增厚、平滑肌增生等^[8,9]。目前,关于 miR-146 和 miR-26 水平与哮喘患者气道重塑的关系的报道较少。本研究旨在探讨 miR-146 和 miR-26 水平与支气管哮喘患者气道炎症及气道重塑的关系,为哮喘的发病机制和治疗靶点提供新的线索。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用前瞻性队列研究设计,收集 2021 年 3 月-2023 年 1 月在重庆市南岸区人民医院呼吸科就诊的 75 例支气管哮喘患者(哮喘组)和 25 名健康体检者(对照组)。哮喘组患者均符合全球哮喘防治倡议(Global Initiative for Asthma,GINA) 2022 版诊断标准。根据哮喘控制水平分为轻度、中度和重度哮喘。哮喘组纳入标准:①符合支气管哮喘诊断标准;②年龄 18~65 岁;③未使用任何抗哮喘药物或仅使用低剂量吸入性皮质类固醇(ICS)治疗;④无其他呼吸系统、心血管系统、消化系统、内分泌系统等严重合并症;⑤无急性感染或发热;⑥无孕妇或哺乳期妇女;⑦无吸烟史或戒烟超过 1 年。排除标准:拒绝参加本研究或中途退出者。对照组无呼吸系统疾病史,无吸烟史,无过敏性疾病史,无慢性炎症性疾病史,无使用任何药物史。两组年龄、性别、身高、体重比较,差异无统计学意义($P>0.05$),研究可比,见表 1。本研究经过本院伦理委员会审批,并获得所有患者的知情同意。

表 1 两组患者一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

项目	哮喘组($n=75$)	对照组($n=25$)	统计值	P
年龄(岁)	45.31±12.64	43.82±11.46	$t=0.581$	0.563
性别(男/女)	38/37	13/12	$\chi^2=0.013$	0.922
身高(cm)	165.40±8.75	166.24±9.33	-0.399	0.687
体重(kg)	64.52±10.27	65.31±11.14	-0.344	0.732

1.2 方法

1.2.1 测定血液指标 外周血中 miR-146、miR-26 的

表达水平采用 EDTA 抗凝法采集患者空腹静脉血 5 ml,离心后取上清血浆,用 TRIzol 试剂提取总 RNA,用 miScript II RT 试剂盒进行逆转录,用 miScript SYBR Green PCR 试剂盒进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR),以 U6 为内参基因,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达水平。血清嗜酸性粒细胞百分比(EOS%)、血清 IgE 水平采用 EDTA 抗凝法采集患者空腹静脉血 2 ml,离心后取上清血清,用全自动血细胞分析仪(Sysmex XN-9000 公司,日本)测定 EOS%,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 IgE 水平。

1.2.2 测定呼出气一氧化氮(FeNO)水平 采用 NIOX MINO 呼出气一氧化氮分析仪(Aerocrine AB 公司,瑞典)按照厂家说明书操作,让患者在仪器的口罩上吹气,仪器会显示 FeNO 的数值。按照说明书的要求,重复测量 3 次,取平均值作为最终结果作为患者的 FeNO 水平。

1.2.3 患者的气道重塑程度评估 采用 64 排螺旋 CT 扫描仪(GE Healthcare 公司,美国)进行高分辨率计算机断层扫描(HRCT),按照标准程序扫描患者的胸部,选择第三肋间隙处的右肺上叶后段支气管作为代表性气道进行分析,测量其气道壁厚度(AWT)、气道壁面积(WA%)、气道内径(AiD)等参数,公式如下: $WT\% = WT/(WT+ID) \times 100\%$; $WA\% = WA/(WA + \pi \times ID^2/4) \times 100\%$; $ID\% = ID/[(WA + \pi \times ID^2/4)/\pi]^{1/2} \times 100\%$ 。

1.3 观察指标 主要观察指标为外周血中 miR-146、miR-26 的表达水平;次要观察指标为 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验或方差分析;计数资料以(n)和($\%$)表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法。相关性分析采用 Spearman 秩相关系数。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-146、miR-26 水平与哮喘严重程度的关系 哮喘组患者的 miR-146、miR-26 水平低于对照组,且随着哮喘严重程度的增加而降低($P<0.05$)。轻度哮喘组患者的 miR-146、miR-26 水平低于对照组,中度哮喘组患者的 miR-146、miR-26 水平低于轻度哮喘组($P<0.05$),重度哮喘组患者的 miR-146、miR-26 水平低于中度哮喘组($P<0.05$),见表 2。

表 2 miR-146、miR-26 水平与哮喘严重程度的关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-146	miR-26
对照组	25	1.23±0.15	1.28±0.16
哮喘组	75	0.65±0.12*	0.68±0.13*
轻度哮喘组	25	0.87±0.11*#	0.91±0.12*#
中度哮喘组	25	0.61±0.09*#&	0.64±0.10*#&
重度哮喘组	25	0.47±0.08*#&△	0.49±0.09*#&△

注: * 与对照组比较, $P<0.05$; # 与轻度哮喘组比较, $P<0.05$; & 与中度哮喘组比较, $P<0.05$; △ 与重度哮喘组比较, $P<0.05$ 。

2.2 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数与哮喘严重程度的关系 哮喘组患者的 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数均高于对照组, 且随

着哮喘严重程度的增加而升高($P<0.05$)。轻度哮喘组患者的 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数高于对照组, 中度哮喘组患者的 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数高于轻度哮喘组, 重度哮喘组患者的 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数高于中度哮喘组($P<0.05$), 见表 3。

2.3 miR-146、miR-26 水平与 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数的相关性 Spearman 秩相关分析显示, miR-146、miR-26 水平与 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数呈负相关($P<0.05$), 见表 4。

表 3 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数与哮喘严重程度的关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FeNO(ppb)	EOS%(%)	IgE(IU/ml)	AWT(mm)	WA%(%)	AiD(mm)
对照组	25	15.62±3.21	1.80±0.52	35.41±12.68	0.32±0.04	23.55±3.13	2.14±0.18
哮喘组	75	38.73±9.40*	5.61±1.43*	98.71±25.38*	0.56±0.08*	38.90±4.62*	1.76±0.15*
轻度哮喘组	25	25.81±4.52*#	3.22±0.71*#	58.61±15.42*#	0.41±0.05*#	28.71±3.40*#	1.98±0.12*#
中度哮喘组	25	38.92±6.82*#&	5.83±1.11*#&	97.42±19.61*#&	0.54±0.06*#&	37.62±3.93*#&	1.79±0.11*#&
重度哮喘组	25	51.42±7.91*#&△	7.86±1.33*#&△	140.13±22.71*#&△	0.73±0.07*#&△	50.22±4.82*#&△	1.51±0.09*#&△

注: * 与对照组比较, $P<0.05$; # 与轻度哮喘组比较, $P<0.05$; & 与中度哮喘组比较, $P<0.05$; △ 与重度哮喘组比较, $P<0.05$ 。

表 4 miR-146、miR-26 水平与 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平和 HRCT 参数的相关性(r)

miRNA	FeNO	EOS%	IgE	AWT	WA%	AiD
miR-146	-0.524	-0.480	-0.453	-0.511	-0.492	0.471
miR-26	-0.541	-0.505	-0.476	-0.536	-0.510	0.497

3 讨论

miR-146 是一种在呼吸道上皮细胞、肺泡巨噬细胞、嗜酸性粒细胞等细胞中表达的 miRNA, 可以调节 T2 型免疫反应表达和调节气道平滑肌中炎症介质的表达。T2 型免疫反应是哮喘的主要免疫机制之一, 涉及 Th2 细胞、IgE、嗜酸性粒细胞等因子^[10]。既往研究发现, miR-146 可以通过靶向 IL-1 β 、IRAK1、TRAF6 等基因抑制 T2 型免疫反应^[11-12], 通过靶向环氧化酶-2 (COX-2) 和 IL-1 β 基因来调节气道平滑肌中炎症介质的表达^[13-15]。miR-26 是一种在肺泡上皮细胞、平滑肌细胞等细胞中表达的 miRNA, 可以抑制上皮细胞的增值及迁移和平滑肌收缩^[16]。前人研究发现^[17, 18], miR-26 可以通过靶向 IL-6、THF- α 、hs-CBP 基因抑制炎症因子和平滑肌收缩。本研究发现, 支气管哮喘患者的外周血中

miR-146、miR-26 水平低于对照组, 且随着哮喘严重程度的增加而降低。同时, miR-146、miR-26 水平与哮喘患者的气道炎症及气道重塑指标呈负相关。这些结果提示, miR-146、miR-26 水平与支气管哮喘患者气道炎症及气道重塑有密切关系, 可能通过调节 T2 型免疫反应和一氧化氮合成酶表达参与哮喘的发生和发展。

哮喘患者的外周血中 miR-146、miR-26 水平显著降低, 且与 FeNO 水平、EOS%、IgE 水平呈负相关, 这可能说明, miR-146 在哮喘患者中失去了对 T2 型免疫反应和气道平滑肌中炎症介质的抑制作用, 从而导致了气道炎症的加重。miR-26 在哮喘患者中失去了对 T2 型免疫反应和平滑肌收缩的抑制作用, 从而导致了气道炎症和气流受限的加重。

气道重塑是指哮喘患者长期存在的气道结构改

变,包括气道壁增厚、平滑肌增生、黏液腺体增生、黏液分泌增加、血管增生等^[19]。气道重塑会导致气道高反应性和气流受限的持久化,并影响哮喘患者的预后^[20]。本研究采用 HRCT 评估患者的气道重塑程度,发现哮喘患者的 AWT、WA% 显著高于对照组, AiD 低于对照组,且随着哮喘严重程度的增加而变化,说明 HRCT 是一种有效的评估气道重塑的方法。本研究还发现,miR-146、miR-26 水平与 AWT、WA% 呈负相关,与 AiD 呈正相关。这可能说明,miR-146、miR-26 水平与气道重塑有关,可能通过影响上述细胞和分子的表达或功能参与气道重塑的过程。

本研究有一些局限性,如样本量较小,未考虑患者的吸烟史、过敏原暴露史等可能影响结果的因素,未进行动物实验或体外实验验证 miR-146、miR-26 与靶基因之间的因果关系等。今后需要进一步扩大样本量,控制混杂因素,进行多中心研究,以及进行实验室研究,以验证本研究的结论,并探讨 miR-146、miR-26 在哮喘治疗中的潜在价值。

参考文献:

- [1]肖云丹,杨丽娜,方睿,等.支气管哮喘患儿血清中 miR-192-3p 表达水平与气道炎症的相关性分析[J].临床和实验医学杂志,2023,22(2):172-175.
- [2]梁振花,严家龙,蒙绪标,等.支气管哮喘合并肺炎支原体感染患者血清 SP-D、TGF- β 1 及 MCP-1 表达及意义[J].中华保健医学杂志,2023,25(1):17-19.
- [3]李予鄂,李明.吸入性糖皮质激素治疗小儿支气管哮喘的临床疗效及对血清炎性因子的影响[J].微循环学杂志,2023,33(1):48-51.
- [4]Liu M,Lv JH,Wu L,et al.MicroRNA in Children with Asthma: Findings from Bronchoalveolar Lavage Fluid [EB/OL]. (2021-01) [2023-05-10]. https://www.researchgate.net/publication/348352999_MicroRNA_in_Children_with_Asthma_Findings_from_Bronchoalveolar_Lavage_Fluid.
- [5]Dong L,Wang Y,Zheng T,et al.Hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles attenuate allergic airway inflammation and airway remodeling in chronic asthma mice [J].Stem Cell Research & Therapy,2021,12(1):1-14.
- [6]王菲,钱萌,欧阳怡,等.支气管哮喘急性发作期患者呼吸道菌群特征及血清 MD-2 水平、EOS% 变化 [J].疑难病杂志,2023,22(2):132-137.
- [7]易贤红,杜鑫,李建木.玉屏风颗粒、氯雷他定联合孟鲁司特对支气管哮喘患儿气道重塑及 IL-5、IFN- γ 、CEC 水平的影

- 响[J].贵州医科大学学报,2023,48(3):363-367.
- [8]Chae KJ,Jin GY,Choi J,et al.Generation-based study of airway remodeling in smokers with normal-looking CT with normalization to control inter-subject variability [J].European Journal of Radiology,2021,138(1):109657.
- [9]杜宁,刘爱华,冯艳,等.基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨白茅根多糖对哮喘气道重塑的作用[J].广东医学,2023,44(4):441-447.
- [10]陈家君,冯净净,施天昀,等.IL-33 在呼吸道合胞病毒(RSV)感染致哮喘急性发作中的作用[J].复旦学报(医学版),2020,47(1):59-65.
- [11]程自超,任长虹,柳国堤,等.沙丁胺醇对支气管哮喘胸背部肌筋膜疼痛触点的影响[J].重庆医学,2022,51(8):1311-1314.
- [12]梁雪,吕磊,钱立庭,等.miR-146a-5p 靶向 IRAK1、TRAF6 抑制小细胞肺癌耐药[J].安徽医科大学学报,2020,55(3):333-339.
- [13]吴小盈,周雪,胡晓霞,等.天麻素通过调控 NF- κ B/NLRP3 信号通路对 BV2 细胞炎症损伤的保护作用 [J].中成药,2023,45(3):918-923.
- [14]Ma X,Buscaglia LEB,Barker JR,et al.MicroRNAs in NF- κ B signaling [J].Journal of Molecular Cell Biology,2011,3(3):159-166.
- [15]Mostaço-Guidolin LB,Osei ET,Ullah J,et al.Defective fibrillar collagen organization by fibroblasts contributes to airway remodeling in asthma [J].American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,2019,200(4):431-443.
- [16]朱静,孙志佳.盐酸左西替利嗪口服溶液联合丙酸氟替卡松气雾剂治疗过敏性鼻炎合并支气管哮喘患儿的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2022,38(15):1727-1730.
- [17]Comer BS,Camoretti-Mercado B,Kogut PC,et al.MicroRNA-146a and microRNA-146b expression and anti-inflammatory function in human airway smooth muscle[J].AJP Lung Cellular and Molecular Physiology,2014,307(9):727-734.
- [18]周斌,彭淑梅,何敬华,等.外周血 miRNA-26b 和 miRNA-216a 表达与支气管哮喘急性发作儿童肺功能的相关性 [J].中国临床研究,2021,34(6):727-730.
- [19]胡彩莉,彭彩霞,胡彩虹.微小 RNA-26a 高表达调控 PTEN 并促进哮喘大鼠气道平滑肌细胞的增殖[J].兰州大学学报(医学版),2020,46(3):43-49.
- [20]买买提艾力·吐尔逊,李黎,钟雪梅.线粒体融合蛋白 2 与慢性阻塞性肺疾病气道重塑的相关性分析[J].中国医刊,2023,58(1):41-45.

收稿日期:2023-06-01;修回日期:2023-06-10

编辑/肖婷婷